



República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) BR 102014001753-4 B1



(22) Data do Depósito: 24/01/2014

(45) Data de Concessão: 22/12/2020

(54) Título: TUBO BIOPOLIMÉRICO, PROCESSO DE OBTENÇÃO E SEUS USOS

(51) Int.Cl.: A61L 27/20; A61L 27/58; A61F 2/44.

(73) Titular(es): UFPE - UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO.

(72) Inventor(es): RODRIGO FRAGOSO DE ANDRADE; IVSON BEZERRA DA SILVA; DENIELE BEZERRA LÓS; SILVIA REGINA ARRUDA DE MORAES.

(57) Resumo: TUBO BIOPOLIMÉRICO, PROCESSO DE OBTENÇÃO E SEUS USOS. A presente invenção refere-se a um tubo biopolimérico, processo de obtenção do referido tubo e os usos do tubo biopolimérico. Em específico, a presente invenção refere-se a um tubo biopolimérico que possui comprimento de 5 mm a 10 mm, diâmetro interno de 1,5 mm a 3 mm e diâmetro externo de 1,5 mm a 3 mm, e ao uso do tubo biopolimérico na preparação de um tubo biopolimérico para promover e guiar a regeneração e reparação de lesões em nervos. A presente invenção situa-se nos campos da química, farmácia e medicina.

TUBO BIOPOLIMÉRICO, PROCESSO DE OBTENÇÃO E SEUS USOS

→ Campo da invenção

01. A presente invenção refere-se a um tubo biopolimérico, processo de obtenção do referido tubo e os usos do tubo biopolimérico. Em específico, a presente invenção refere-se a um tubo biopolimérico que possui comprimento de 5 mm a 10 mm, diâmetro interno de 1,5 mm a 3 mm e diâmetro externo de 1,5 mm a 3 mm, e ao uso do tubo biopolimérico na preparação de um tubo biopolimérico para promover e guiar a regeneração e reparação de lesões em nervos. A presente invenção situa-se nos campos da Química, Farmácia e Medicina.

→ Antecedentes da invenção

02. A técnica de tubulização aplicada no reparo da lesão por secção de nervo periférico promove a orientação dos axônios em crescimento, direcionando-os ao coto distal, além de minimizar a infiltração de tecido cicatricial fibroso que poderia atrapalhar o processo regenerativo, além de permitir o acúmulo de fatores neurotróficos (Lundborg, 1988; Schmidt, Leach, 2003). Nos últimos anos, as pesquisas se intensificaram na tentativa de utilizar materiais biocompatíveis e absorvíveis ao organismo, para serem usados como tubo guia, com o intuito de não induzir à reação do tipo corpo estranho, evitando eventos inflamatórios que gerassem fibrose, dificultando a regeneração axonal (Freitas, Flores, 2004). O biopolímero produzido a partir do melão da cana-de-açúcar foi testado na regeneração de outros tecidos do corpo, apresentando baixa citotoxicidade celular para macrófagos alveolares (Castro *et al.*, 2004), promovendo benefícios no que se refere à quantidade de tecido de granulação, controle da infecção e diminuição do tempo de cicatrização, contribuindo para

otimizar o processo cicatricial, sendo visto como um produto promissor a ser utilizado em feridas cutâneas (Coelho *et al.*, 2002) e como remendo em arterioplastias venosas em cães após lesões traumáticas vasculares (Aguiar *et al.*, 2007). Contudo, o biopolímero da cana-de-açúcar ainda não havia sido utilizado como matéria prima para produzir o tubo guia para a regeneração nervosa periférica. A associação do uso desse material na técnica de tubulização apresenta vantagens por tratar-se de um material biodegradável e biocompatível que, enquadrado nesses termos, ao ser introduzido para guiar o crescimento do tecido nervoso, não necessita de um segundo procedimento cirúrgico para realizar a retirada de fragmentos do tubo (Seckel, 1990).

03. A busca na literatura patentária apontou alguns documentos relevantes que serão descritos a seguir.

04. O documento PI 9603700-8 revela um biopolímero produzido a partir de materiais provenientes da cultura da cana-de-açúcar via microrganismo *Zooglea sp.* com aplicação nas áreas de química e bioquímica como, por exemplo, na produção de fios cirúrgicos biodegradáveis e como biomembrana de variadas aplicações.

05. A presente invenção difere deste documento pelo fato de revelar os usos do filme biopolimérico na preparação de tubo oco polimérico para promover e guiar a regeneração e reparação de lesões em nervos.

06. O documento PI 0712979-3 revela tubos poliméricos constituídos por colágeno para regeneração de nervos seccionados. Os referidos tubos poliméricos compreendem uma parede constituída por uma série de películas de colágeno contínuas, cilíndricas e coaxiais.

07. A presente invenção difere deste documento pelo fato de revelar os usos de um filme biopolimérico não revelado no documento PI 0712979-3 na preparação de tubo oco polimérico para promover e guiar a regeneração e reparação de lesões em nervos.

08. Assim, do que se depreende da literatura pesquisada, não foram encontrados documentos antecipando ou sugerindo os ensinamentos da presente invenção de forma que, aos olhos dos inventores, a solução aqui proposta possui novidade e atividade inventiva frente ao estado da técnica.

→ **Sumário da invenção**

09. É um dos aspectos da presente invenção um tubo biopolimérico composto por pelo menos uma camada de filme biopolimérico.

10. Em uma realização preferencial, o filme biopolimérico é produzido por um processo compreendendo as etapas de:

- a) cultivar a bactéria *Zooglea sp* em suspensão no meio de melação de cana-de-açúcar;
- b) incubar em temperatura na faixa de 20°C a 35°C; e
- c) obtenção do filme biopolimérico e secagem do filme.

11. Em uma realização preferencial, o tubo biopolimérico apresenta as seguintes dimensões:

- a) comprimento de 5 mm a 10 mm;
- b) espessura de 0,1 mm a 0,5 mm;
- c) diâmetro interno de 1,5 mm a 3 mm; e
- d) diâmetro externo de 1,5 mm a 3 mm.

12. Em uma realização preferencial, o tubo biopolimérico apresenta as seguintes dimensões:

- a) comprimento de 8 mm;
- b) espessura de 0,1 mm;
- c) diâmetro interno de 2,3 mm; e
- d) diâmetro externo de 2,5 mm.

13. Em outro aspecto, a presente invenção refere-se a um processo de obtenção do tubo biopolimérico compreendendo as etapas de:

a) cultivo da bactéria *Zooglea sp* em suspensão em um produto derivado da cana-de-açúcar; e

b) obter o formato tubular para o filme biopolimérico obtido na etapa a).

14. Em uma realização preferencial, o produto derivado da cana-de-açúcar é o melaço de cana-de-açúcar.

15. Em uma realização preferencial, o cultivo em suspensão da bactéria *Zooglea sp*. ocorre em temperatura na faixa de 20°C a 35°C.

16. Em uma realização preferencial, a obtenção do formato tubular para o filme biopolimérico da etapa b) é em molde tubular polimérico.

17. Em uma realização preferencial, o processo de obtenção de tubo biopolimérico compreende a etapa adicional de esterilização em radiação gama.

18. Em mais outro aspecto, a presente invenção refere-se ao uso do tubo polimérico no preparo de um tubo guia para promover e guiar a regeneração e reparação de lesões em nervos, regeneração e reparação esta consistindo em implantar o referido tubo guia no espaço vazio criado pelo nervo seccionado.

19. Em uma realização preferencial, os nervos são nervos periféricos.

20. Em uma realização preferencial, o nervo periférico é o nervo ciático.

21. Em uma realização preferencial, a parede do tubo guia compreende pelo menos uma película de filme biopolimérico.

22. Em uma realização preferencial, a regeneração e reparação de lesões em nervos ocorre de forma orientada.

23. Estes e outros aspectos da invenção serão imediatamente valorizados pelos versados na arte e pelas empresas com interesses no segmento, e serão descritos em detalhes suficientes para sua reprodução na descrição a seguir.

→ **Breve descrição das figuras**

24. A Figura 1 mostra a distribuição do tamanho das fibras mielínicas por meio de um histograma que demonstra a relação entre o diâmetro das fibras mielínicas regeneradas no interior dos tubos de polietileno e biopolímero com as fibras de animais sem lesão.

25. A Figura 2 mostra uma fotomicrografia de cortes transversais semifinos do nervo ciático, em um aumento de 1000 vezes. A - refere-se ao grupo controle. B - refere-se ao grupo polietileno. C - refere-se ao grupo biopolímero.

→ **Descrição detalhada da invenção**

26. Os exemplos aqui mostrados têm o intuito somente de exemplificar uma das inúmeras maneiras de se realizar a invenção, contudo sem limitar o escopo da mesma.

Tubo biopolimérico

27. No contexto do presente pedido de patente, tubo biopolimérico deve ser entendido como o tubo biopolimérico que é produzido por um processo que compreende as etapas de: a) cultivar a bactéria *Zooglea sp* em meio de melaço de cana-de-açúcar; e b) incubar em temperatura na faixa de 20°C a 35°C. Entretanto, deve-se entender também que outras etapas são possíveis neste processo de produção do tubo biopolimérico como, por exemplo, a etapa de esterilização do tubo biopolimérico em radiação gama. Pode-se entender que o tubo

biopolimérico também é uma película (monocamada ou multicamada) de polissacarídeos.

Produto derivado da cana-de-açúcar

28. No contexto do presente pedido de patente, o termo deve ser entendido como qualquer tipo de produto ou subproduto da cana-de-açúcar que possua características semelhantes ao melaço da cana-de-açúcar e apropriado para o cultivo da bactéria do gênero *Zooglea*.

Melaço de cana-de-açúcar

29. No contexto do presente pedido de patente, o termo deve ser entendido como um produto resultante da fabricação do açúcar e que possui açúcares redutores e sacarose não cristalizada.

Molde tubular polimérico

30. No contexto do presente pedido de patente, o termo deve ser entendido como um molde em formato tubular e cujo material pode ser um material polimérico como, por exemplo, polietileno. O molde tubular polimérico, no contexto do presente pedido de patente, possui a função de moldar o filme biopolimérico obtido pelo processo revelado na presente invenção, de modo que o filme biopolimérico obtenha o formato tubular e, desse modo, ser possível sua utilização como um tubo guia.

Tubo guia

31. No contexto do presente pedido de patente, o tubo guia deve ser entendido como um cilindro oco biopolimérico, entretanto, não se limitando à forma cilíndrica. Ainda no contexto do presente pedido de patente, deve-se entender que o tubo guia é um tubo formado a partir do biopolímero descrito no presente pedido de patente e que é utilizado para auxiliar na regeneração e/ou reparação de lesões em nervos, em específico os nervos periféricos, incluindo o nervo ciático.

Nervos periféricos

32. No contexto do presente pedido de patente, o termo deve ser entendido como qualquer nervo do sistema nervoso periférico como, por exemplo, mas não se limitando a: nervo plexo braquial, nervo peroneal comum, nervo femoral, nervo mediano, nervo radial, nervo ciático, nervo tibial, nervo ulnar, dentre outros nervos periféricos.

→ Exemplo 1 - Realização preferencial

Construção dos biopolímeros

33. Os tubos de biopolímero foram fabricados a partir de um filme de superfície contínua de um exopolissacarídeo, um copolímero bioativo constituído de glicose (87%), xilose (8,5%), ribose (1,68%), manose (0,82%), arabinose (0,37%), galactose (0,13%), fucose (0,01%), ramnose (0,01%) e ácido glicurônico (0,83%), obtidos da polimerização de açúcares do melaço da cana de açúcar por via biotecnológica. Para a produção do exopolissacarídeo, a bactéria *Zooglea sp* foi mantida em suspensão com o melaço da cana-de-açúcar (158Brix, pH 5,0), em frascos de erlenmeyer (250mL), sendo incubado em temperatura de 30°C por 7 dias. A película de polissacarídeos foi lavada em água deionizada, esterilizado (120°C, 40 min) e seco em placas de Petri (60°C) para formar a membrana de biopolímero. A parede dos tubos era formada de uma monocamada do filme com 0,1mm de espessura e para manter uma padronização do processo regenerativo, os tubos do biopolímero foram confeccionados com o mesmo comprimento (9 mm) e diâmetro interno (2,3 mm) que os tubos de polietileno expandido. Após a sua confecção, os tubos eram esterilizados em radiação gama para garantir a natureza estéril do material a ser utilizado no procedimento cirúrgico.

Quanto à obtenção da forma tubular do biopolímero

34. A forma tubular do biopolímero foi realizada a partir da obtenção da membrana de biopolímero produzida a partir do melaço da cana-de-açúcar. Para que a membrana assumisse um formato tubular, utilizou-se uma sonda nasogástrica de polietileno como molde (com tamanho apropriado para obter o tubo de biopolímero nas dimensões utilizadas), envolvendo este tubo com uma camada única da membrana do biopolímero hidratada. Após esta etapa, este material foi desidratado, assumindo uma consistência mais firme, o que permitia sua manipulação cirúrgica. O desafio inicial foi determinar quais as melhores características de comprimento, espessura e diâmetro interno do tubo para a reconstrução da lesão total do nervo periférico. Por fim, determinar a quantidade de camadas que a membrana precisaria formar para ser um material de manipulação adequada.

35. A utilização do tubo de biopolímero mostra-se bastante promissora para a reparação da lesão total do nervo periférico, visto que é um material produzido a partir do melaço da cana, produto de fácil aquisição e baixo custo, tendo em sua constituição açúcares, que inibe processos de rejeição tecidual, além de sua característica de sofrer degradação biológica a longo prazo, permitindo um bom direcionamento do tecido nervoso em regeneração.

36. A comparação entre os grupos biopolímero e polietileno não apresentou diferença com relação ao número de fibras nervosas mielínicas, área de secção transversa do filamento nervoso regenerado, densidade e diâmetro de fibras mielínicas e espessura da bainha de mielina presentes no interior do tubo 60 dias após o procedimento cirúrgico inicial de neurotomia do nervo ciático. No entanto, com relação ao número de vasos sanguíneos, diâmetro axonal e razão G, nota-se claramente melhores resultados para o grupo do biopolímero, em relação ao grupo polietileno. Estes dados demonstram que o tubo de

biopolímero mostra-se adequado para ser utilizado no processo de regeneração do nervo periférico. A análise histológica qualitativa dos fragmentos nervosos regenerados demonstrou não haver presença de reação inflamatória, nem sinais indicativos de rejeição do biopolímero durante o processo de absorção do mesmo. Desta forma, estes resultados demonstram que o tubo de biopolímero produzido a partir da cana-de-açúcar pode ser utilizado de forma eficaz durante o processo de regeneração do nervo periférico após lesão de secção total desta estrutura.

Tabela 1 - Comparação do uso dos tubos de polietileno e de biopolímero no processo de regeneração nervosa 60 dias após neurotomia e reparo do nervo ciático

Grupo	Número total de fibras mielínicas	Área de secção transversal (μm^2)	Densidade de fibras mielínicas (fibras/ μm^2)	Número total de vasos
Controle	8697 \pm 564	696 \pm 106	13 \pm 2	61 \pm 7
Polietileno	7654 \pm 1856	355 \pm 210*	25 \pm 4*	59 \pm 26
Biopolímero	7966 \pm 970	304 \pm 88*	24 \pm 4*	93 \pm 5*§

37. Na Tabela 1, o símbolo * indica comparação com o grupo controle e o símbolo § indica comparação com o grupo polietileno. Os valores estão expressos como média + desvio-padrão. Anova, pós-teste Tukey, $p < 0,05$.

Tabela 2 - Achados morfométricos das fibras mielínicas do nervo ciático após a transecção nervosa total e tubulização com biopolímero ou polietileno

Parâmetro	Controle	Polietileno	Biopolímero
Diâmetro da fibra (μm)	6,17 \pm 0,58	2,55 \pm 0,12	3,12 \pm 0,19

Diâmetro do axônio (μm)	3,62 \pm 0,29	1,60 \pm 0,11	2,18 \pm 0,17
Espessura da mielina (μm)	1,27 \pm 0,18	0,47 \pm 0,03	0,46 \pm 0,03
Razão G	0,6 \pm 0,02	0,61 \pm 0,02	0,67 \pm 0,02

38. Os valores da Tabela 2 estão expressos como média \pm desvio padrão.

39. A partir dos resultados quantitativos apresentados na Tabela 2 acima, pode-se considerar que:

a) em relação ao parâmetro diâmetro da fibra (μm), há diferença significativa ($p < 0,05$, Anova, pós-teste Tukey) quando são comparados os resultados obtidos para os grupos Controle/Polietileno e Controle/Biopolímero;

b) em relação ao parâmetro diâmetro do axônio (μm), há diferença significativa ($p < 0,05$, Anova, pós-teste Tukey) quando são comparados os resultados obtidos para os grupos Controle/Polietileno, Controle/Biopolímero e Polietileno/Biopolímero;

c) em relação ao parâmetro espessura da mielina (μm), há diferença significativa ($p < 0,05$, Anova, pós-teste Tukey) quando são comparados os resultados obtidos para os grupos Controle/Polietileno e Controle/Biopolímero; e

d) em relação ao parâmetro razão G, há diferença significativa ($p < 0,05$, Anova, pós-teste Tukey) quando são comparados os resultados obtidos para os grupos Controle/Biopolímero e Polietileno/Biopolímero.

40. Os versados na arte valorizarão os conhecimentos aqui apresentados e poderão reproduzir a invenção nas modalidades apresentadas e em outras variantes, abrangidas no escopo das reivindicações anexas.

REIVINDICAÇÕES

- 1) Tubo biopolimérico, **caracterizado por** ser composto por, pelo menos, uma camada de filme biopolimérico, obtido através do cultivo da bactéria *Zooglea sp* em suspensão no meio de melaço de cana-de-açúcar.
- 2) Tubo biopolimérico, de acordo com a Reivindicação 1, **caracterizado pelo** filme biopolimérico ser produzido por um processo compreendendo as etapas de:
 - a) cultivar a bactéria *Zooglea sp* em suspensão no meio de melaço de cana-de-açúcar;
 - b) incubar em temperatura na faixa de 20° C a 35° C; e
 - c) obtenção do filme biopolimérico e secagem do filme.
- 3) Tubo biopolimérico, de acordo com as Reivindicações 1 ou 2, **caracterizado por** apresentar:
 - a) comprimento de 5 mm a 10 mm;
 - b) espessura de 0,1 mm a 0,5 mm;
 - c) diâmetro interno de 1,5 mm a 3 mm; e
 - d) diâmetro externo de 1,5 mm a 3 mm.
- 4) Tubo biopolimérico, de acordo com qualquer uma das Reivindicações 1 a 3, **caracterizado por** apresentar:
 - a) comprimento de 8 mm;
 - b) espessura de 0,1 mm;
 - c) diâmetro interno de 2,3 mm; e
 - d) diâmetro externo de 2,5 mm.
- 5) Processo de obtenção do tubo biopolimérico, conforme definido em qualquer uma das Reivindicações 1 a 4, **caracterizado por** compreender as etapas de:
 - a) cultivo da bactéria *Zooglea sp* em suspensão em um produto derivado da cana-de-açúcar; e

b) obter o formato tubular para o filme biopolimérico obtido na etapa a).

6) Processo, de acordo com a Reivindicação 5, **caracterizado pelo** produto derivado da cana-de-açúcar ser o melaço de cana-de-açúcar.

7) Processo, de acordo com as Reivindicações 5 ou 6, **caracterizado pelo** cultivo em suspensão da bactéria *Zooglea sp* ocorrer em temperatura na faixa de 20°C a 35°C.

8) Processo, de acordo com qualquer uma das Reivindicações 5 a 7, **caracterizado pela** obtenção do formato tubular para o filme biopolimérico da etapa b) ser em molde tubular polimérico.

9) Uso do tubo polimérico, conforme definido em qualquer uma das Reivindicações 1 a 4, **caracterizado por** ser no preparo de um tubo guia para promover e guiar a regeneração e reparação de lesões em nervos, regeneração e reparação esta consistindo em implantar o referido tubo guia no espaço vazio criado pelo nervo seccionado.

10) Uso, de acordo com a Reivindicação 5, **caracterizado pelos** nervos serem nervos periféricos.

11) Uso, de acordo com as Reivindicações 6 ou 7, **caracterizado pela** parede do tubo guia compreender, pelo menos, uma película de filme biopolimérico.

12) Uso, de acordo com qualquer uma das Reivindicações 6 a 8, **caracterizado pela** regeneração e reparação de lesões em nervos ocorrer de forma orientada.

FIGURAS

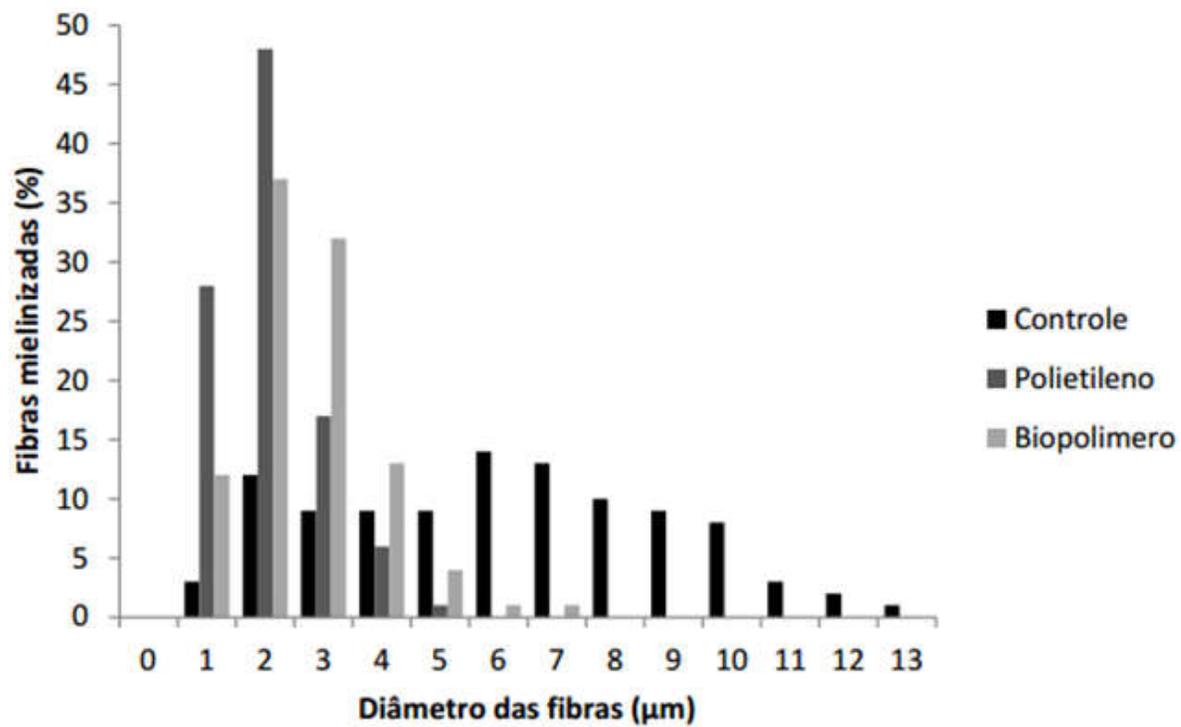


Figura 1

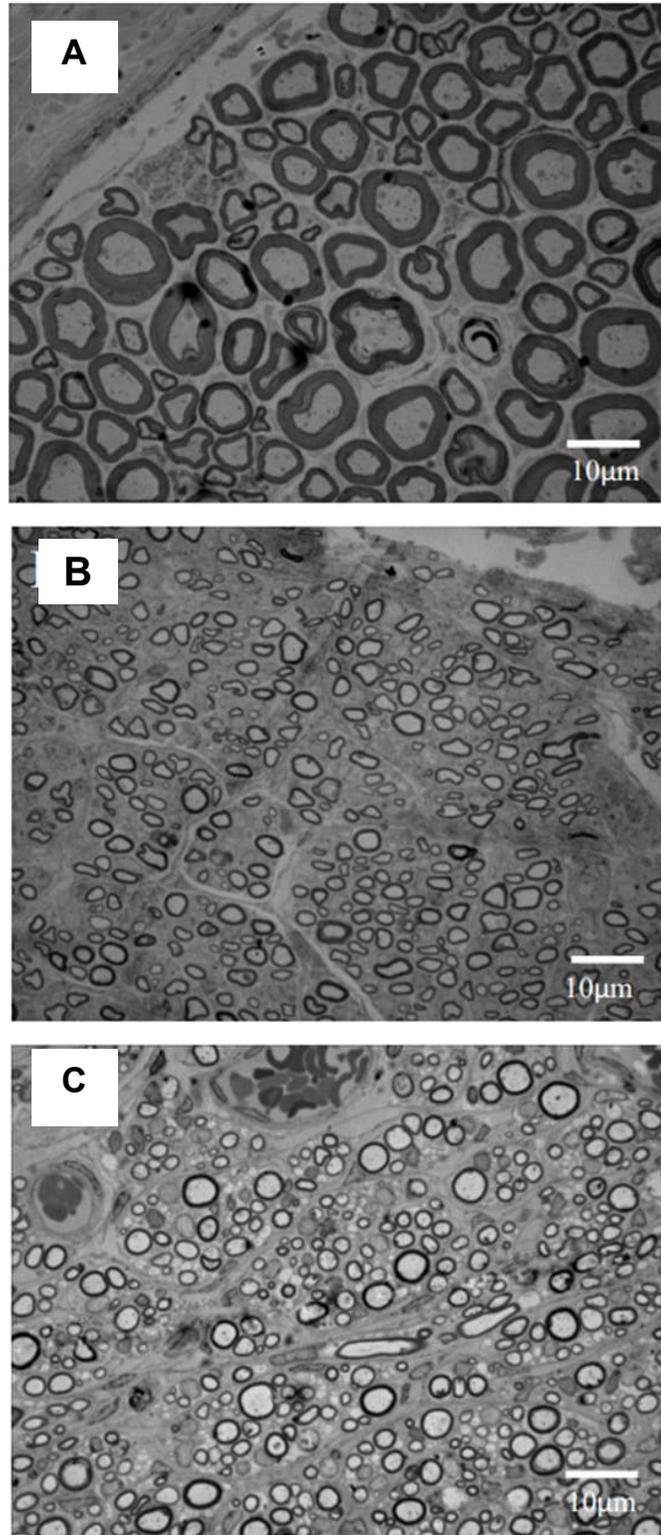


Figura 2